

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

G 0 1 N 33/566

G 0 1 N 33/566

C 1 2 Q 1/68

C 1 2 Q 1/68

A

G 0 1 N 33/50

G 0 1 N 33/50

P

審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 6 頁)

(21) 出願番号

特願平9-304366

(22) 出願日

平成9年(1997)11月6日

(71) 出願人

000233055

日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社

神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地

(72) 発明者

山本 順次

神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地

日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内

(72) 発明者

奈須 永典

神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地

日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内

(74) 代理人

弁理士 平木 祐輔 (外2名)

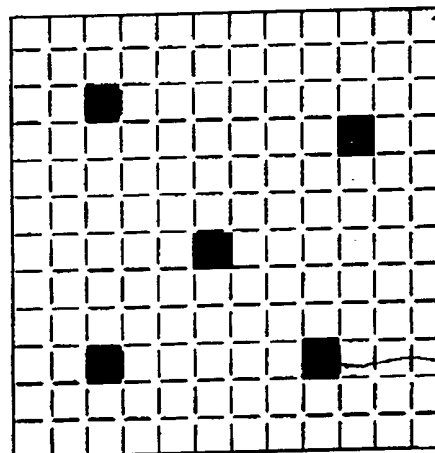
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 バイオチップ及びバイオチップ読取装置

(57) 【要約】

【課題】 バイオチップ読取において、プローブのバイオチップ上の配置による誤差をなくし、読取の信頼性を増すこと。

【解決手段】 同一種類のプローブをいくつかの複数のフィーチャー23に割り当ててバイオチップ12を構成し、その同一種類のプローブに対する読取値の平均値を算出して、信頼性を増し、標準偏差を算出して、信頼度を評価する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 複数の位置に同一種類のプローブを有することを特徴とするバイオチップ。

【請求項2】 バイオチップ上の複数位置のプローブに対する読取値の平均値を演算するデータ処理手段を備えることを特徴とするバイオチップ読取装置。

【請求項3】 バイオチップ上の複数位置のプローブに対する読取値の標準偏差を演算するデータ処理手段を備えることを特徴とするバイオチップ読取装置。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、バイオチップ読取に関し、特に、高い精度及び信頼性を持って、試料の同定・定性を行うバイオチップ及びその読取装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】従来から、既知の配列をもつ核酸や蛋白質をハイブリダイズすることで生体内の特定分子の同定・分画を行うことが多かった。しかし、例えば現在研究の進んできた遺伝病は現在知られているだけで約3,000種類もあり、その同定には多くの時間を費やしている。これに対し、短時間で大量の試料を処理できる装置が開発されている。その主な例としては、「METHODS FOR MAKING A DEVICE FOR CONCURRENTLY PROCESSING MULTIPLE BIOLOGICAL CHIP ASSAYS: Richard P. Rava, San Jose; Stephen P. A. Fodor, Palo Alto; Mark Tyulson, San Jose, all of Calif. (米国特許第5,545,531号明細書)」がある。通常バイオチップ上に固定されたヌクレオチドは5'を光プロテクトされており、これに光を照射すると光プロテクトがはずれ、化学反応（ここでは結合）が可能になる。その時反応しなくてもよい部分にはマスクを施し、選択部分だけに光を照射するように設定する。このバイオチップ上に5'を光プロテクトされたヌクレオチドを添加すると選択部分だけに結合反応が起こり、その部分だけプローブが伸長される。これを繰り返すことによって、種々の配列をもつヌクレオチドがチップ上に作成される。次に、試料の同定・定性について説明する。蛍光標識した試料を上記チップ上に添加し、ハイブリダイズさせる。このとき比較として標準試料も同様にハイブリダイズさせる。ハイブリダイズ後、蛍光イメージアナライザーで試料と標準試料のイメージを読み取り比較する。

【0003】

【本発明が解決しようとする課題】ところで上記のような従来の手法では、1種類のプローブは1つのバイオチップ上に1つしか合成されていなかった。したがって、なんらかの誤作動があった場合、そのプローブに対する試料の親和性は誤ったものとして認識されていた。また、プローブの量がバイオチップ上に平均的に合成されているかどうかの確認はされていなかったため、そのプローブに対する試料の親和性は、合成されたプローブの量による影響を受けていた。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明のバイオチップは、複数の位置に同一種類のプローブを有するものである。また、本発明のバイオチップ読取装置は、バイオチップ上の複数位置のプローブに対する読取値の平均値を演算するデータ処理手段を備えるものである。さらに、本発明のバイオチップ読取装置は、バイオチップ上の複数位置のプローブに対する読取値の標準偏差を演算するデータ処理手段を備えるものである。

【0005】

【発明の実施の形態】以下、本発明の1実施の形態を図面を用いて具体的に説明する。図1は、本発明のバイオチップ読取装置の構成図であり、バイオチップ読取装置はレーザ光源11からのレーザ光をバイオチップ12に照射する。図2に、バイオチップ12の具体例を示す。バイオチップ12は、特許請求の範囲に記載した「位置」の一例である、ますめ状の複数のフィーチャー22から成るものであり、プローブ、試料などを反応させる場である。本発明では、同一種類のプローブをいくつかの複数のフィーチャー23に割り当ててバイオチップ12を構成するものである。図では、同一種類のプローブを5か所に配置する例を示しているが、これに限られず、複数であれば良い。また、同一種類のプローブは、バイオチップ12上の位置による特異性を相殺するために、ある程度離れて、かつ、端と中央など異なる配置にする方が、より好ましい。

【0006】図1に戻って、バイオチップ12上の蛍光標識されたプローブ又は試料の蛍光物質がレーザ光により励起されて、蛍光物質から発光した蛍光をホトマルチプライヤ13で電気信号として検出し、増幅器14で増幅して、アナログ/デジタル変換器15でデジタル信号に変換して、データ処理装置16に入力する。データ処理装置16では、同一種類のプローブに対する読取値の平均値を算出し、また、標準偏差を算出するものである。平均値を算出することにより、信頼のおける読取値を得ることができる。標準偏差を算出することにより、読取値の散らばりが分かるので、読取値の信頼度を得ることができる。これにより、読取値の散らばりが所定値よりも大きい場合には警告を出すようにしても良い。また、同一種類のプローブが数多くある場合は、最大値最小値を捨てて平均値を算出すると、より信頼度の高い読取値を得ることができる。これらの結果は表示装置17で表示することができるし、プリンタ18で紙出力することもできる。

【0007】図3は、読取の説明図であり、図3(a)はプローブ33の蛍光の読取を示している。フィーチャー22に結合しているプローブ33を標識している蛍光物質34がレーザ光31で照射されて、蛍光物質から発

光する蛍光341は励起光などのノイズを除去するための光干渉フィルタ35を通過してホトマルチプライヤ36で検出される。このように、蛍光物質34から発生する蛍光341を読み取ることによりプローブ33がバイオチップ12上にどのように合成されているかを確認することができる。

【0008】図3(b)は、試料DNA37の蛍光の読取を示している。レーザ光31を照射すると、プローブ33を標識している蛍光物質34と試料DNA37を標識している蛍光物質38が励起される。蛍光物質から発光する蛍光341と381は光干渉フィルタ35を通過してホトマルチプライヤ13で検出される。このとき蛍光物質34と38は異なる蛍光を発するものを使用する。また、光干渉フィルタ35を使い分けることでプローブと試料DNAの蛍光を読み分ける。例えば、グリーンレーザを照射して励起させ、プローブ標識用蛍光物質34にJOE(Perkin-Elmer社)を、試料DNA標識用蛍光物質38にSYPRO^(R) Redを用いた場合について説明する。まずプローブ33の蛍光341はJOEの蛍光波長548nmに合わせて548nmの光干渉フィルタを用いて検出する。次にハイブリダイゼーション後に測定する試料DNA37の蛍光381はSYPRO^(R) Redの蛍光波長625nmに合わせて625nmの光干渉フィルタを用いる。これらの蛍光強度の差分をとり、試料DNAの補正蛍光強度とする。

【0009】図4は、プローブ位置の記憶テーブルを示している。プローブはn種類あり、それぞれのプローブについて「プローブ位置及び蛍光強度格納部」と、「結果格納部」がある。「プローブ位置及び蛍光強度格納部」には、バイオチップ12上のフィーチャー22の座標としてプローブ位置 x_i が格納され、更に、そのプローブ位置 x_i におけるプローブ蛍光強度 p_i 、試料DNA蛍光強度 s_i 、及び補正蛍光強度 i_i が格納される。

「結果格納部」には、各プローブ位置における補正蛍光強度 i_i から算出される蛍光強度平均値A1及び標準偏差D1が格納される。

【0010】図5は、読み取られた蛍光強度を編集処置する一例のフローチャートを示している。まず、プローブの種類を表す変数であるNを1として(S1)、Nがn未満か否かを判断し(S2)、yesであってNがn未満であれば、試料蛍光強度 s_N からプローブ蛍光強度 x_N を減算して、補正蛍光強度 i_N を求める(S3)。すなわち、 $i_N \leftarrow s_N - x_N$ 。そして、蛍光強度 $i_1 \sim i$

y (y は同一種類のプローブの数)の中で最大値のものを削除し(S4)、蛍光強度 $i_1 \sim i_y$ の中で最小値のものを削除し(S5)、残りの $i_1 \sim i_y$ の蛍光強度を全て加算し、これを T_N として(S6)、蛍光強度平均値 A_N を求める(S7)。すなわち、 $A_N \leftarrow T_N / (y - 2)$ 。また、 A_N を基準値として蛍光強度 $i_1 \sim i_y$ の標準偏差 D_N を求める(S8)。結果(A_N , D_N)を各プローブの結果格納部(図4に図示)に記憶する(S9)。そして、Nをカウントアップして(S10)、ステップS2の判断に戻る。ステップS2でNがnに達して、noとなれば、結果(A_N , D_N ; Nは1~n)を表示して(S11)、終了する。

【0011】

【発明の効果】この発明を用いると、

- (1). 同一種類のプローブに対し、1回の読取操作により複数の読取値を得ることができるので、読取の信頼性を増すことができる。
- (2). 同一種類のプローブをバイオチップ上の複数の位置に合成するので、プローブのバイオチップ上の位置による特異性を相当程度相殺することができる。
- (3). 同一種類のプローブに対して複数の読取値を得ることができるので、そのバラツキにより読取値の信頼性を評価することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のバイオチップ読取装置の構成図。

【図2】本発明のバイオチップ12の具体例を示す図。

【図3】本発明によるバイオチップ読取の説明図。

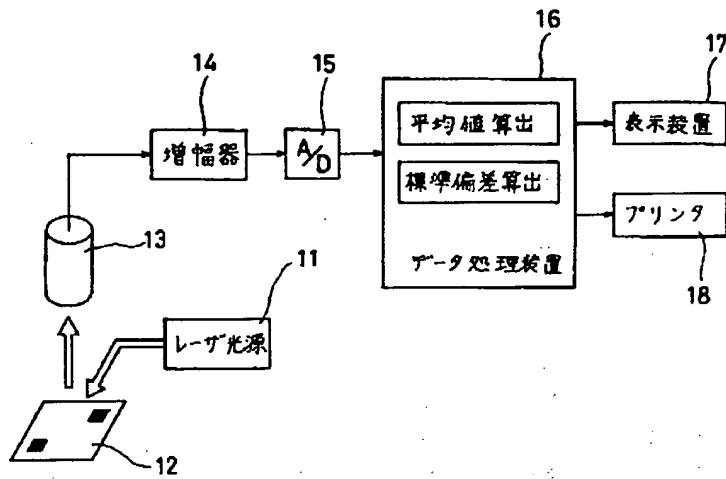
【図4】本発明によるプローブ位置の記憶テーブルを示す図。

【図5】本発明により読み取られた蛍光強度を編集処置する一例のフローチャートを示す図。

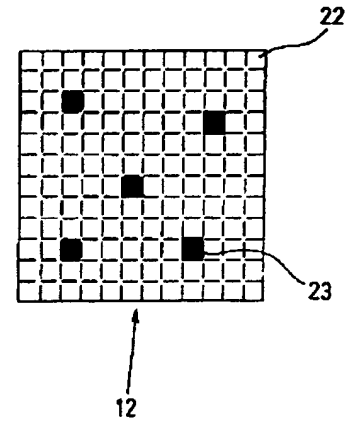
【符号の説明】

- 12 バイオチップ
- 13 ホトマルチプライヤ
- 22 フィーチャー
- 23 同一プローブのフィーチャー
- 31 レーザ光
- 33 プローブ
- 34 蛍光物質
- 35 フィルタ
- 37 試料DNA
- 38 蛍光物質

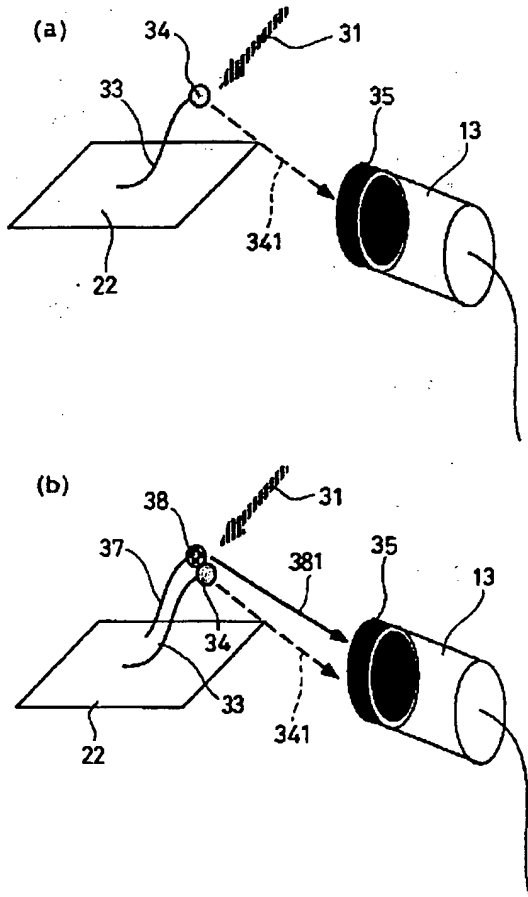
【図1】



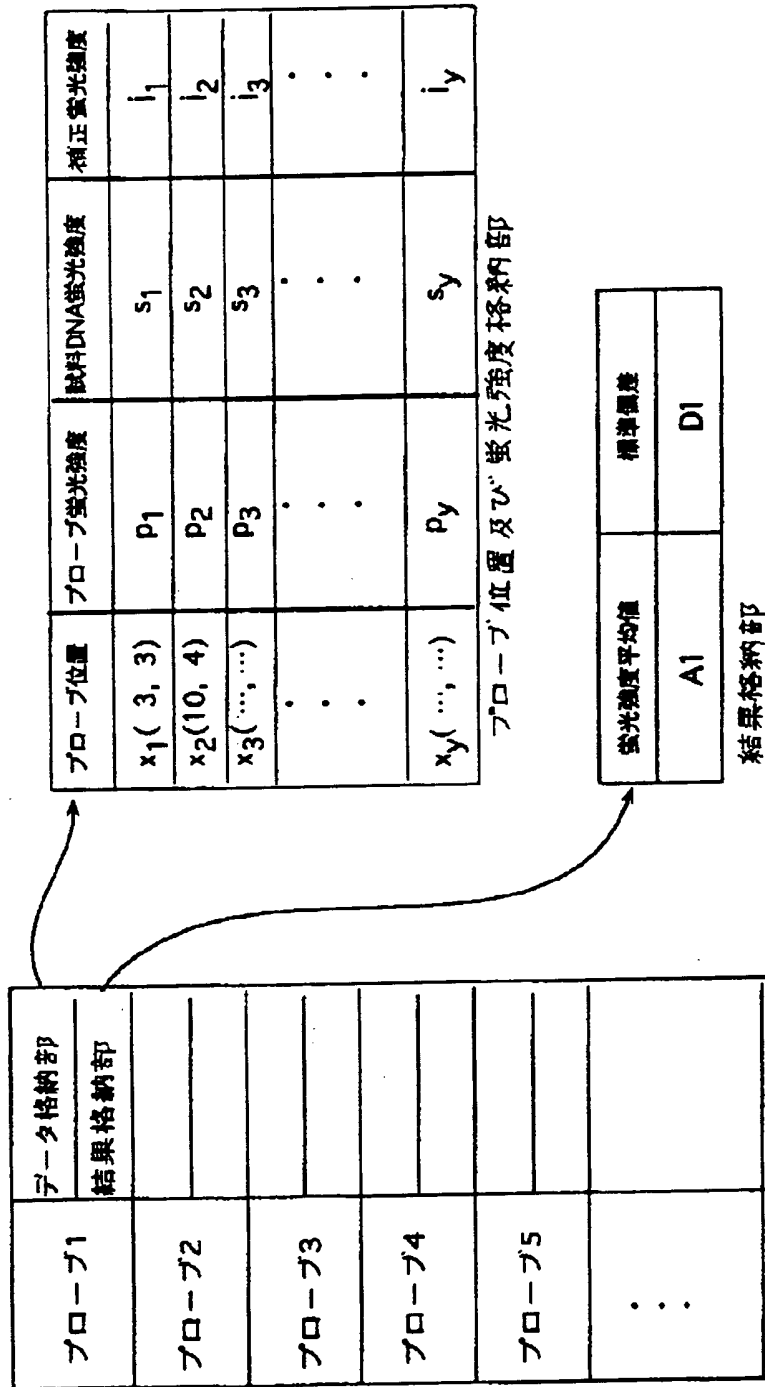
【図2】



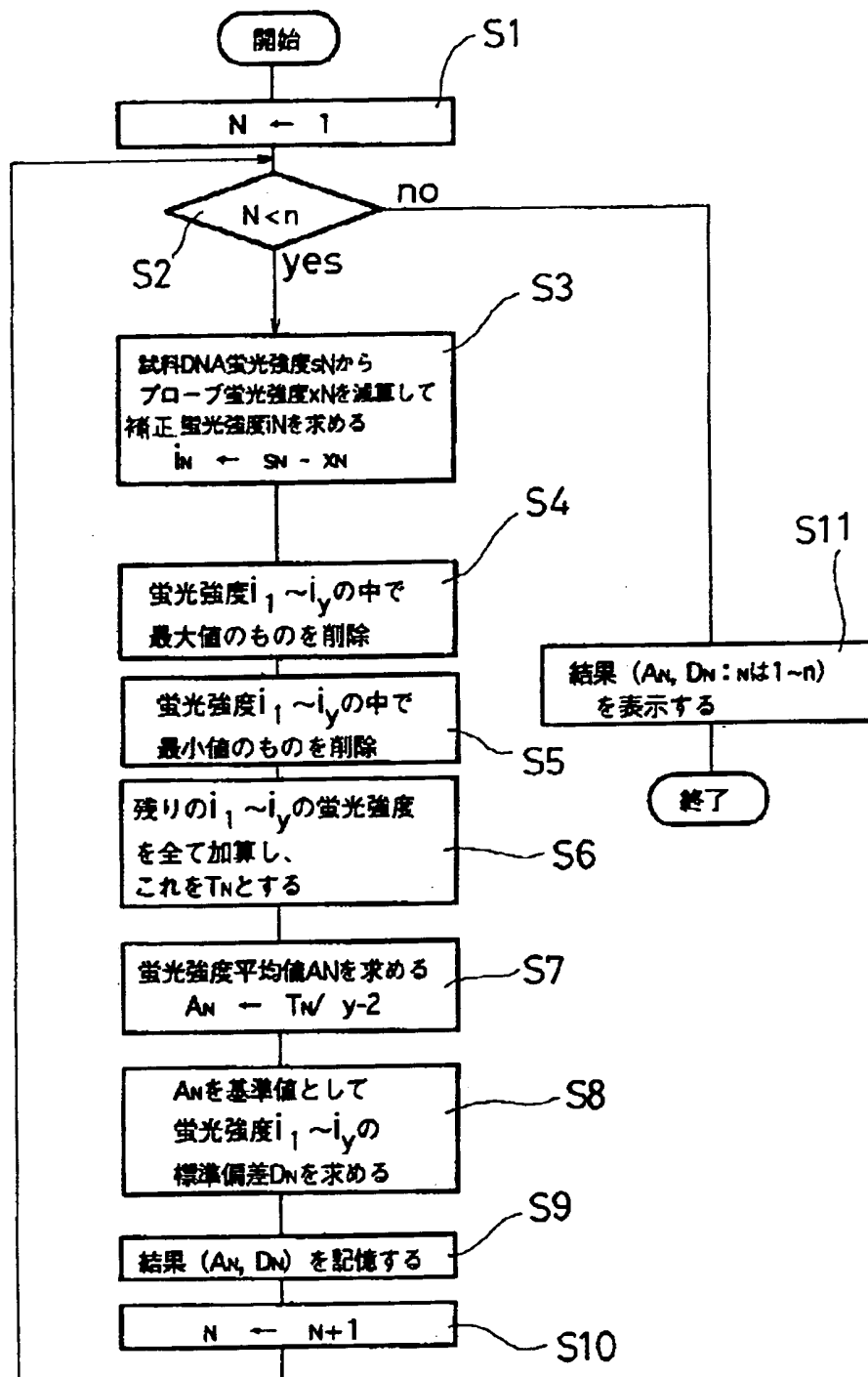
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

(72)発明者 百合野 以子
神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地
日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内

(72)発明者 藤宮 仁
神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地
日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
社内